

Fäulnisversuche mit Glutamin- und Asparaginsäure.

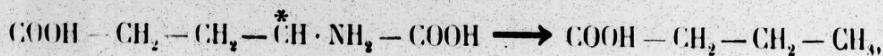
Von

L. Borchardt, z. Z. Assistent an der med. Klinik zu Königsberg.

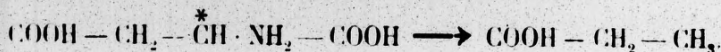
(Aus dem Institut für medicin. Chemie und experim. Pharmakologie zu Königsberg.
Direktor Gehr. Jaffe.)

(Der Redaktion zugegangen am 1. Februar 1909.)

Über das Schicksal der Dicarbonsäuren beim bakteriellen Eiweißabbau lagen bis in die jüngste Zeit nur äußerst dürftige Mitteilungen vor. Ungefähr gleichzeitig und unabhängig voneinander sprachen Neuberg¹⁾ in seiner Studie über die Entstehung des Erdöls und Ellinger²⁾ in einem Aufsatz über die Chemie der Eiweißfäulnis die Vermutung aus, daß «auch Dicarbonsäuren, wie die Asparagin- und Glutaminsäure, einbasische flüchtige Fettsäuren liefern». Während Ellinger nur kurz auf die Wahrscheinlichkeit dieses Entstehungsmodus hinwies, stützten Neuberg und Rosenberg³⁾ ihre Vermutung durch quantitative Betrachtungen. Sie fanden, daß bei der Untersuchung der flüchtigen Fettsäuren aus gefaultem Casein mehr als $\frac{1}{3}$ der Fettsäuren auf normale Buttersäure entfällt; und da als Muttersubstanz dieser Mengen Buttersäure Aminobuttersäure, welche in Casein höchstens in sehr geringer Quantität vorhanden ist, nicht in Betracht kam, so postulierten sie die Entstehung aus Glutaminsäure nach folgendem Schema:



indem sie annahmen, daß gleichzeitig Desamidierung und Kohlensäureabspaltung an demselben C-Atom (*) erfolgt. In ganz der gleichen Weise vermuten sie einen Übergang der Asparaginsäure in Propionsäure bei der Fäulnis:



¹⁾ Sitzungsber. Preuß. Akad. der Wissensch., 1907, S. 451.

²⁾ Ergebn. d. Physiol., Bd. VI, 1907, S. 48.

³⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. VII, 1907, S. 178.

Diese theoretischen Erwägungen bewogen mich, durch einige Fäulnisversuche mit Glutamin- und Asparaginsäure die beim Abbau der Dicarbonsäuren entstehenden Produkte zu untersuchen. Als meine Resultate bereits fertig vorlagen, erschien eine Arbeit von Brasch und Neuberg¹⁾ über Fäulnisversuche mit Glutaminsäure, die sowohl in der Versuchsanordnung wie in den Resultaten mit meinen Versuchen in den meisten Punkten übereinstimmt. Auf einige differente Punkte werde ich später eingehen.

5 g Glutaminsäure wurden in 1500 ccm Wasser gelöst, mit Soda schwach alkalisch gemacht und mit einigen Flocken faulender Leber versetzt. Nach vierwöchigem Verweilen im Brutschrank wurde die Flüssigkeit mit Schwefelsäure angesäuert und unter wiederholter Wasseraufnahme der Destillation unterworfen. Von dem Destillat, das deutlich nach Fettsäuren roch, wurde ein Teil mit $\frac{1}{20}$ -KOH titriert. Der Verbrauch entsprach auf Buttersäure berechnet einer Gesamtmenge von 0,532 g. Aus dem Rest wurde durch Versetzen mit Barytwasser, Ausfällung des überschüssigen Ba mit Kohlensäure und Einengen das Baryumsalz, aus diesem durch genaues Ausfällen mit Silbersulfat das Silbersalz dargestellt. Dasselbe fiel als schmutzigweißes Salz aus, das sich beim Stehen im Dunkeln noch etwas dunkler färbte. Eine Schwarzfärbung, wie sie Brasch und Neuberg sahen und auf das Vorhandensein etwas größerer Mengen von Ameisensäure bezogen, habe ich nicht beobachtet. Nach dem Umkrystallisieren erhielt ich ein fast ganz weißes Silbersalz, das nach der Analyse buttersaures Silber darstellte.

0,1030 g Substanz ergaben 0,0570 g Ag

Berechnet für $C_4H_7O_2Ag$: Ag = 55,38%

Gefunden: = 55,34%

Die bei der Destillation zurückgebliebene schwefelsaure Lösung wurde mit Äther solange ausgeschüttelt, bis nichts mehr in den Äther überging. Nach Abdestillieren des Äthers blieben 0,0835 g einer bräunlich gefärbten, krystallinischen stark hygroskopischen Substanz zurück: die geringe Menge genügte nicht

¹⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. XIII, 1908, S. 299.

zur Identifizierung. Ich bin daher nicht in der Lage, die von Brasch und Neuberg gemachte Angabe, daß bei der Glutaminsäurefäulnis Bernsteinsäure entsteht, zu bestätigen.

Die nach der Ätherextraktion zurückgebliebene Lösung der Fäulnisprodukte wurde mit Na_2CO_3 alkalisch gemacht und wieder destilliert. Ein Teil des Destillats wurde mit $n_{20}\text{-H}_2\text{SO}_4$ titriert, es entsprach 0,342 g NH_3 in der Gesamtmenge. Aus dem Rest wurde das Platinchloridsalz dargestellt, dessen Analyse für Platinammoniumchlorid stimmte:

0,1470 g Substanz ergaben	0,0648 g Pt
Berechnet für $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_6$:	Pt = 43,90%
Gefunden:	= 44,08%

Es scheinen also andere flüchtige Basen als Ammoniak bei der Glutaminsäurefäulnis nicht gebildet worden zu sein.

Aus der alkalischen Lösung ließ sich mit Äther nichts ausschütteln.

Die zurückbleibende Flüssigkeit enthielt noch 0,948 g in Alkohol lösliche organische Substanz.

Ich kann auf Grund dieses Versuches die Angabe von Brasch und Neuberg bestätigen, daß bei der Glutaminsäurefäulnis Buttersäure entsteht, und zwar wahrscheinlich direkt, da auch ich Glutarsäure unter den bei der Fäulnis von Glutaminsäure auftretenden Substanzen nicht feststellen konnte. Flüchtige Fäulnisbasen außer Ammoniak konnten nicht nachgewiesen werden.

Ganz ähnlich wie die Glutaminsäure wird die nächst niedere Dicarbonsäure, die Asparaginsäure bei der Fäulnis abgebaut:

5 g Asparaginsäure (Kahlbaum) wurden in 2 l Wasser gelöst, mit Soda alkalisch gemacht und 5 Wochen lang im Brutschrank der Fäulnis ausgesetzt. Die mit Schwefelsäure angesäuerte Flüssigkeit wurde dann unter wiederholter Wasseraufnahme der Destillation unterworfen. Ein Teil des Destillats, das deutlich nach Fettsäuren roch, wurde mit $n_{20}\text{-KOH}$ neutralisiert und entsprach 0,562 g Propionsäure in der Gesamtmenge. Aus dem Rest wurde (in ähnlicher Weise wie bei der Glutaminsäurefäulnis) zuerst das Ba-Salz, dann das Ag-Salz dargestellt, das nach der Analyse propionsaures Silber darstellte.

0,1640 g Substanz ergaben 0,0975 g Ag

Berechnet für $C_3H_5O_2Ag$: Ag = 59,67%

Gefunden: = 59,45%

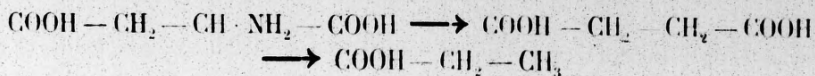
Die bei der Destillation zurückgebliebene saure Lösung wurde ca. 6 mal mit Äther ausgeschüttelt; nach Abdestillieren des Äthers blieb ein krystallinischer Rückstand, dessen Menge nach dem Trocknen im Exsikkator 0,827 g betrug. Derselbe konnte als Bernsteinsäure identifiziert werden: Schmelzpunkt 183° (verlangt für Bernsteinsäure 185°), Siedepunkt 235° (verlangt für Bernsteinsäure 235°). Eine Probe gab die Pyrrolreaktion, eine andere nach dem Neutralisieren mit Natronlauge die Eisenchloridreaktion (rotbraune Färbung). Schließlich wurde aus dem Rest das Ba-Salz dargestellt, dessen Analyse die für bernsteinsaures Baryum geforderten Werte ergab.

0,2000 g Substanz ergaben 0,1835 g $BaSO_4$

Berechnet für $C_3H_4O_4Ba$: Ba = 54,22%

Gefunden: = 54,01%

Hier ergibt sich also ein wichtiger Unterschied gegenüber der Glutaminsäurefäulnis. Während bei dieser Glutarsäure nicht nachweisbar ist und der Abbau direkt unter gleichzeitiger Desamidierung und Kohlensäureabspaltung bis zur Buttersäure erfolgt, wird bei der Asparaginsäurefäulnis in reichlicher Menge Bernsteinsäure gebildet. Ob diese eine Zwischenstufe auf dem Wege von der Asparaginsäure darstellt im Sinne des Schemas:



oder ob die beiden Prozesse nebeneinander verlaufen, mag dahingestellt bleiben.

Der nach der Ätherextraktion gebliebene Rückstand wurde mit Soda alkalisch gemacht und abermals destilliert. Ein Teil des Destillats wurde mit $n_{20}\text{-H}_2\text{SO}_4$ titriert und entsprach 0,480 g NH_3 in der Gesamtmenge. Ein Teil wurde als PtCl_4 -Salz analysiert und stellte Platinammoniumchlorid dar.

0,1673 g Substanz ergaben 0,0740 g Pt

Berechnet für $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_6$: Pt = 43,90%

Gefunden: = 44,23%

Bei der Asparaginsäurefäulnis scheinen also (ebenso wie

bei der Glutaminsäurefäulnis) andere flüchtige Basen als Ammoniak nicht gebildet zu werden.

Aus der alkalischen Lösung der Fäulnisprodukte werden mit Äther 0,0255 g krystallinische Substanz ausgeschüttelt.

Die schließlich zurückbleibende Flüssigkeit enthält noch 0,755 g organische, in Alkohol lösliche Substanz.

Zusammenfassung.

Bei der Fäulnis der im Eiweißmolekül vertretenen Dicarbonsäuren, der Glutaminsäure und Asparaginsäure, entstehen die Fettsäuren der nächst niederen Stufe, und zwar aus der Glutaminsäure anscheinend direkt unter gleichzeitiger Desamidierung und CO_2 -Abspaltung Buttersäure, aus der Asparaginsäure zunächst unter NH_2 -Abspaltung Bernsteinsäure und schließlich unter CO_2 -Abspaltung Propionsäure. Flüchtige Basen außer Ammoniak konnten bei der Fäulnis der Dicarbonsäuren nicht nachgewiesen werden.